植 物 分 类 学 报 35(4):293~296(1997)
Acta Phytotaxonomica Sinica

濒危植物裂叶沙参的大小孢子发生及雌雄配子体发育*

郭延平 潘开玉 葛颂
(中国科学院植物研究所系统与进化植物学开放研究实验室,北京 100093)

SPOROGENESIS AND GAMETOGENESIS OF ENDANGERED *ADENOPHORA LOBOPHYLLA* HONG(CAMPANULACEAE)

Guo Yan-ping Pan Kai-yu Ge Song
(*Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100093)

Abstract Reported in this paper are the microsporogenesis, megasporogenesis and the development of male and female gametophytes of the endangered species *Adenophora lobophylla*. The anther is four-sporangiate with its wall composed of four layers: epidermis, fibrous endothelium, middle layer and glandular tapetum of binucleate cells. The cytokinesis of microspore mother cell in meiosis is simultaneous, and tetrads are tetrahedral. Pollen grains are 2-celled at the dispersal stage. Ovule is anatropous, unitegmic and tenuinucellate with a hypodermal archesporial cell developing directly as the megaspore mother cell which undergoes meiotic division and then forms a linear tetrad. The embryo sac is of Polygonum type. The polar nuclei fuse before fertilization. An endothelium differentiates when the uninucleate embryo sac forms. Comparative studies were made with the closely related and widely distributed species *A. potaninii*. No differences between them were found. No obstacle to sexual reproduction in this endangered species was observed. As a conclusion, no endangering factors were found to influence the sporogenesis and gametogenesis of *A. lobophylla*. According to our observision and the references on embryological studies of the Campanulaceae(s.l.), there is no evident differentiation in sporogenesis and gametogenesis in this family.

Key words Sporogenesis; Gametogenesis; *Adenophora lobophylla*; *A. potaninii*; Campanulaceae

摘要 本文以近缘广布种泡沙参为对照,对濒危物种裂叶沙参进行了大小孢子发生和雌雄配子体发育的研究。裂叶沙参的药壁发育为双子叶型,绒毡层为腺质型,细胞含两核。小孢子母细胞在减数分裂过程中胞质分裂为同时型。小孢子四分体为四面体型,成熟花粉粒为 2-细胞型。胚珠倒生,单珠被,薄珠

* 国家自然科学基金重大项目“中国主要濒危植物的保护生物学研究”,项目编号 3939150。
本文承蒙胡适宜教授审阅并提出宝贵意见;杨学健先生冲印照片,在此深表谢意。
1996-11-01 收稿。

心,大孢子四分体为线形排列,胚囊发育为蓼型。成熟胚囊中两极核在受精之前融合为一个大的次生核。当胚囊发育至单核胚囊时,珠被的最内层细胞发育为珠被绒毡层。濒危植物裂叶沙参在大、小孢子发生及雌、雄配子体的发育过程中,未见有败育及其它异常现象;与对照种泡沙参相比,也未见有差异,这说明裂叶沙参的致濒原因不在于有性生殖过程。

关键词 大、小孢子发生;雌、雄配子体发育;裂叶沙参;泡沙参;桔梗科

裂叶沙参 *Adenophora lobophylla* Hong 隶属桔梗科 Campanulaceae 沙参属 *Adenophora*。据标本和资料记载,该种植物分布于我国四川省金川县(模式产地)、马尔康县及丹巴县,但近年来的野外调查表明,其目前的分布区仅限于金川和丹巴两县,分布总面积不足 5000 km^2,且呈逐渐缩小的趋势①, 是多年生草本类群中濒危物种的典型代表。裂叶沙参最主要的繁殖方式是有性生殖,但有关这方面的研究至今尚无报道。本文旨在通过对该种大、小孢子发生及雌、雄配子体发育的实验观察,检测其有性生殖过程中是否存在生殖障碍,为探讨裂叶沙参致濒的原因和机制及保护措施的制定提供资料。

1 材料和方法

本研究选取适应性较强的近缘广布种泡沙参 *A. potaninii* Korsh. 作为对照种。两个种的部分实验材料取自野外的不同居群,部分材料取自移栽于中国科学院植物研究所系统与进化植物学开放研究实验室实验地的植株。在两种植物的整个花期中,选取不同发育阶段的花,用 FAA 固定并保存。常规石蜡切片,厚度为 7～8 μm。铁矾-苏木精染色,固绿衬染。在 Leitz Orthoplan 镜上观察并照相。

2 观察结果

裂叶沙参和泡沙参的花序为聚伞圆锥花序,但前者花序分枝较纤细,常由几朵花组成疏散圆锥花序,有时退化为单花。两种植物的花均为两性,雌、雄蕊异熟,虫媒异花传粉。雄蕊 5 枚,花药 4 室、纵裂;雌蕊 3 心皮、3 室,子房下位,中轴胎座,胚珠多数。

2.1 小孢子发生及雄配子体发育

分化完全的药室壁由 4 层细胞组成,即表皮、药室内壁、中层和绒毡层(图版 1:1)。中层在小孢子母细胞减数分裂初期就已解体;绒毡层为腺质型,初期的绒毡层细胞为单核,发育至后期为双核(图版 1:2)。小孢子孢原细胞起源于花药原基的下表皮细胞。孢原细胞经多次分裂形成排列紧密的次生造孢细胞,随后直接发育为小孢子母细胞(图版 1:1)。小孢子母细胞减数分裂过程中的胞质分裂为同时型(图版 1:3～7)。四分体的排列为四面体型,初形成的四分体被胼胝质所包围(图版 1:8)。胼胝质壁的积累始于小孢子母细胞,并一直保持到小孢子四分体时期(图版 1:2～8)。胼胝质壁解体后释放出初呈新月形而后呈圆球形的小孢子(图版 1:9)。随着小孢子液泡化程度增高,大液泡将细胞核推向花粉壁的一侧(图版 1:10～11)。小孢子在贴壁的位置分裂,形成一个营养细胞和一个生殖细胞(图版 1:12)。随着发育,生殖细胞逐渐游离于营养细胞中(图版 1:13)。成熟花

① 张文辉,1995. 博士学位论文:裂叶沙参种群动态与濒危机制的研究(东北林业大学)。

粉粒为2-细胞型,具3个萌发孔(图版1:14)。生殖细胞的分裂,两精子的形成是在花粉萌发后的花粉管中进行的。小孢子母细胞的减数分裂在同一朵花的不同药室间、甚至同一药室中并不是同步的,同一药室中可相差2～3个时期(图版1:3),不同药室间可相差4～5个时期。

2.2　大孢子发生及雌配子体发育

裂叶沙参和泡沙参的胚珠倒生,单珠被。雌蕊的发育远落后于雄蕊。当雄蕊发育至小孢子四分体时,雌蕊的胚珠原基上才分化出孢原细胞;大孢子母细胞形成时,雄配子体已基本发育成熟。孢原细胞体积大、核大、细胞质较浓,位于一层珠心表皮下,此时珠被原基已分化出。孢原细胞不经分裂直接发育成大孢子母细胞(图版1:15,17; 图版2:23)。在实验中还偶然观察到同一胚珠中由双孢原细胞发育而成的两个大孢子母细胞的现象(图版1:16。)大孢子母细胞经减数分裂,形成线形排列的四分体(图版1:18～19;图版2:24～28)。四分体中珠孔端3个大孢子退化(图版1:20; 图版2:29～30),唯合点端的一个为功能大孢子,并由其发育为单核胚囊(图版1:20; 图版2:30)。单核胚囊的核经3次分裂先后形成二核胚囊(图版1:21; 图版2:31)、四核胚囊(图版2:32)直至形成一个正常的八核胚囊。随后,八核胚囊很快进行胞质分裂,珠孔端的4个核形成卵器和上极核;合点端的4个核形成反足细胞和下极核(图版2:33～34)。中央细胞中的两个极核在胚囊中央融合,形成一个大的次生核(图版1:22),它在受精前向卵器靠近。卵器中的助细胞为倒梨形,其珠孔端具丝状器(图版2:33～34)。花粉管进入胚囊时,经由并破坏一个助细胞,另一个助细胞也随后退化。反足细胞也在受精之后退化,初生胚乳核分裂至4～8细胞时还可见反足细胞的遗迹(见另文,待发表)。

2.3　珠被绒毡层

裂叶沙参和泡沙参的胚珠具单珠被,薄珠心。大孢子母细胞减数分裂后期至单核胚囊期,珠心表皮开始退化,与此同时,珠被的最内层细胞分化为珠被绒毡层(图版1:19～21; 图版2:29～31)。这样,珠被包含有3层结构:表皮细胞、基本组织和珠被绒毡层。

3　讨　论

根据对裂叶沙参不同发育时期172朵花、约8000枚胚珠的观察,未见其在大、小孢子发生及雌、雄配子体发育过程中存在败育或其它异常现象;与对照种泡沙参相比,也未见差异。本研究表明裂叶沙参的致濒原因不在于有性生殖的上述阶段。裂叶沙参和泡沙参的药壁发育为双子叶型(Davis, 1966),成熟花粉粒为2-细胞型,已有的资料(Johri *et al*., 1992; Davis, 1966)表明,桔梗科植物的成熟花粉粒为2～3-细胞型,一般来说隶属半边莲亚科 Lobelioidae 的植物多为3-细胞型,如半边莲属 *Lobelia*,同瓣花属 *Isotoma* 等(Subramanyam, 1949; Cooper, 1942; Kausik, 1938);而桔梗亚科植物多为2-细胞型,但也有例外,如 *Cephalostigma* 的一些种类和 *Walenbergia gracilis* (Want, 1963; Subramanyam, 1947; Kausik & Subramanyam, 1947)。由此看来,花粉类型对桔梗科的亚科划分具有一定的参考价值,而在较低分类等级上则意义不大。裂叶沙参和泡沙参的胚珠倒生,单珠被,薄珠心;胚囊发育为蓼型,这与 Davis(1966)和 Johri *et al*.(1992)对整个桔梗科(广义)的总结基本一致。Rosén(1932)曾报道 *Campanula capathica* 中的多孢原现

象,我们在泡沙参中也观察到一个胚珠中具两个孢原细胞的现象,但未见多胚囊的产生。桔梗科植物的大孢子四分体通常为线形,偶见"T"形(Johri *et al*., 1992; Davis, 1966; Rosén, 1932),本文在对裂叶沙参和泡沙参的观察中未发现"T"形四分体。

参 考 文 献

Cooper G O, 1942. Microsporogenesis and development of seed in *Lobelia cardinalis*. Bot Gaz, 104: 72～81

Davis G L, 1966. Systematic Embryology of the Angiosperms. New York: John Wiley & Sons, Inc, 70～71

Johri B M, Ambegaokar K B, Srivastava P S, 1992. Comparative Embryology of Angiosperms. Vol 2. Berlin: Springer-Verlag, 796～830

Kausik S B, 1938. Gametogenesis and embryogeny in *Lobelia nicotianaefolia* Heyne. J Indian Bot Soc, 17: 161～168

Kausik S B, Subramanyam K, 1947. Embryology of *Cephalostigma schimperi*. Bot Gaz, 109: 85～90

von Rosén W, 1932. Zur Embryologie der Campanulaceen und Lobeliaceen. Acta Hortic Gothoburgensis, 7: 31～42

Subramanyam K, 1947. A case of polyembryony in *Wahlenbergia gracillis* Schrad. Curr. Sci, 16:350

Subramanyam K, 1949. An embryological study of *Lobelia pyramidalis* Wall., with special reference to the mechanism of nutrition of the embryo in the family Lobeliaceae. New Phytol, 48:365～373

Want G, 1963. Sporogenesis, gametogenesis, and embryogeny of *Wahlenbergia bicolor* N. Lothian. Aust J Bot, 11:152～167

图版说明 Explanation of Plates

Ant. 反足细胞; DMs. 退化的大孢子; EA. 卵器; En. 珠被绒毡层; PN. 极核; SN. 次生核.

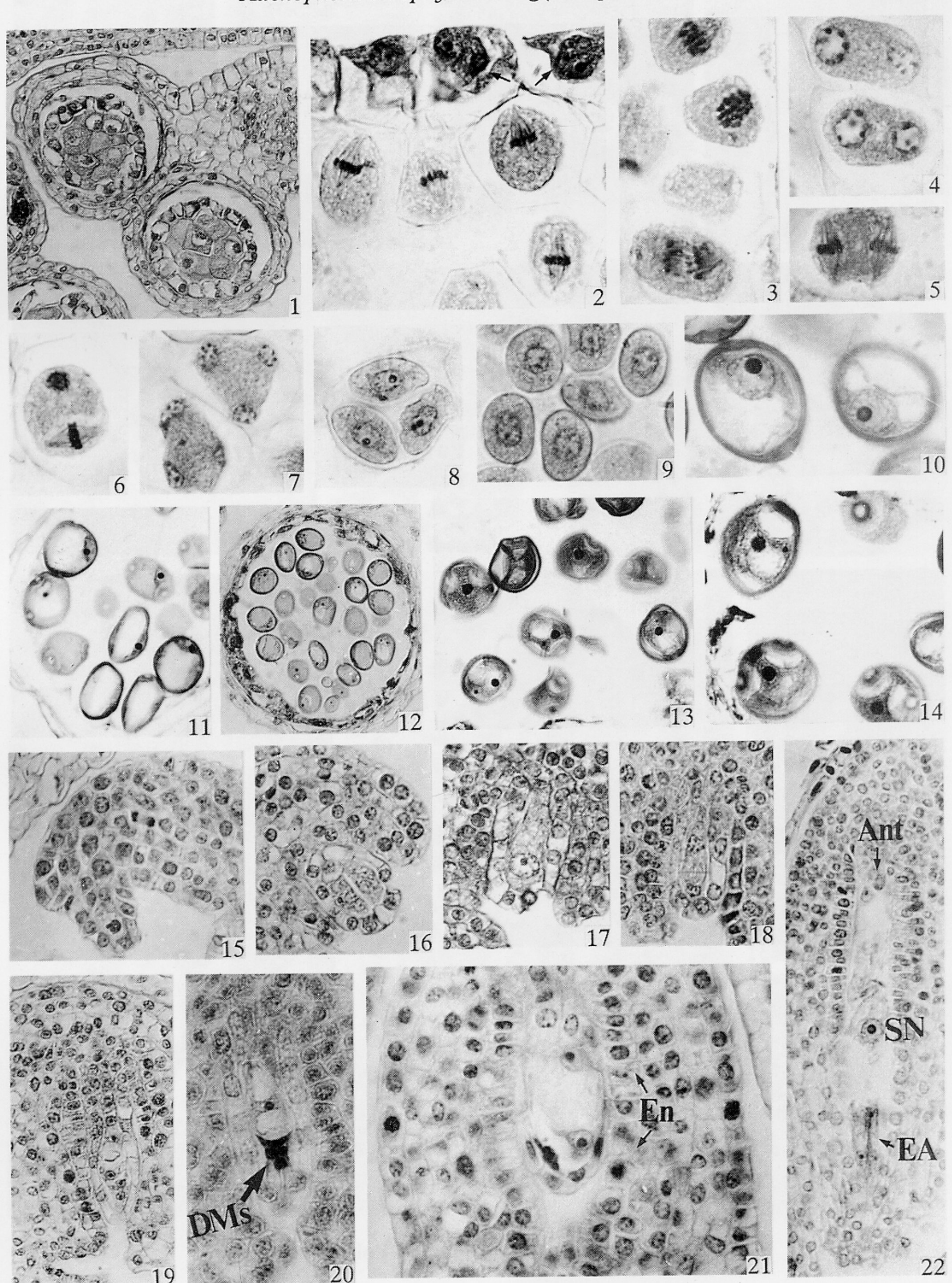
图版 1 1～14. 裂叶沙参; 15～22. 泡沙参 1. 小孢子母细胞。2～7. 小孢子母细胞减数分裂,图 2 中箭头示双核的绒毡层细胞。8. 四面体型小孢子四分体。9. 刚释放出来的小孢子。10. 小孢子长大,其细胞壁加厚。11. 单核靠边期小孢子。12. 小孢子分裂为 2 细胞花粉。13～14. 具 2 细胞的成熟花粉。15, 17. 大孢子母细胞。16. 同一胚珠中的 2 个大孢子母细胞。18. 大孢子母细胞减数分裂末期 I。19. 线形排列的大孢子四分体。20. 单核胚囊及珠孔端退化的 3 个大孢子。21. 二核胚囊。22. 成熟胚囊。(1, 12. ×200; 2～10. ×800; 11, 13, 15～19. ×320; 14, 20, 21. ×480; 22. ×300)

图版 2 23～34. 裂叶沙参 23～24. 大孢子母细胞。25～28. 大孢子母细胞减数分裂。29. 功能大孢子及珠孔端正在退化的 3 个大孢子。30. 功能大孢子及珠孔端退化的 3 个大孢子。31. 二核胚囊。32. 四核胚囊。33～34. 成熟胚囊。(23～28, 30, 31, 33, 34. ×480; 29, 32. ×320)

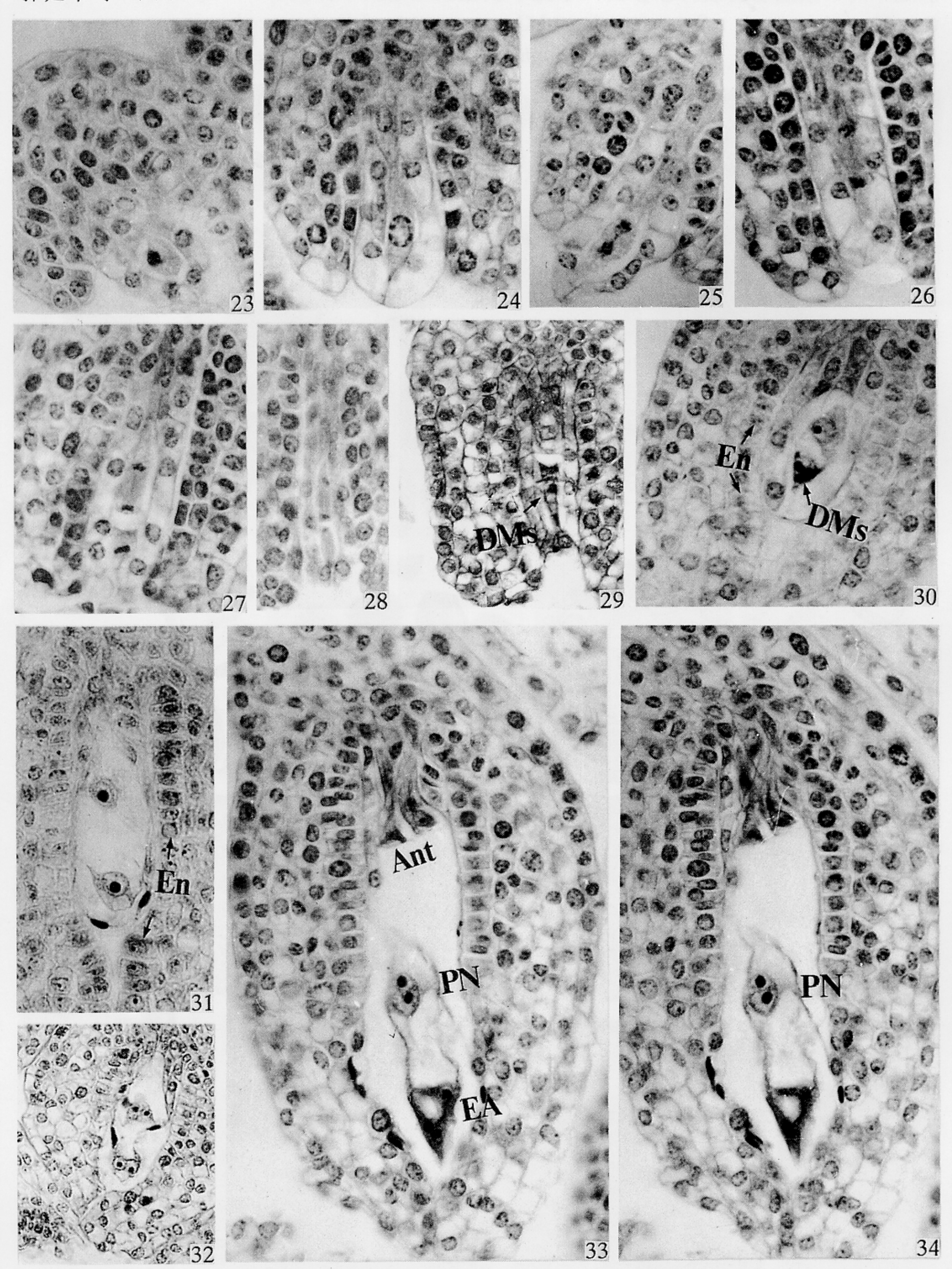
Ant. Antipodal cells; DMs. Degenerated megaspores; EA. Egg apparatus; En. Endothelium; PN. Polar nucleus; SN. Secondary nucleus.

Plate 1 1～4. *Adenophora lobophylla*; 15～22. *A. potaninii* 1. Microspore mother cells. 2～7. Meiosis of the microspore mother cells, the arrowhead showing the binucleate cells of tapetum. 8. The tetrahedral microspore tetrad. 9. The microspores just released. 10. The grown up microspores with the cell-wall thickened. 11. Uninucleus microspore with vacuole filling one side of the pollen cytoplasm. 12. The bicellular pollen grains. 13～14. The mature pollen grains. 15, 17. Megaspore mother cell. 16. Two megaspore mother cells in one ovule. 18. The meiosis telophase I of the megaspore mother cell. 19. Linear megaspore tetrad. 20. Uninucleate embryo sac and the three degenerated megaspores. 21. The 2-nucleate embryo sac. 22. Mature embryo sac. (1, 12. ×200; 2～10. ×800; 11, 13, 15～19. ×320; 14, 20, 21. ×480; 22. ×300)

Plate 2 23～34. *Adenophora lobophylla* 23～24. Megaspore mother cell. 25～28. The meiosis of megaspore mother cell. 29. The functional megaspore and the three degenerating megaspores. 30. The functional megaspore and the degenerated megaspores. 31. The 2-nucleate embryo sac. 32. The 4-nucleate embryo sac. 33～34. The mature embryo sac. (23～28, 30, 31, 33, 34. ×480; 29, 32. ×320)



see explanation at the end of text



see explanation at the end of text